



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК



ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД

ИМ. И.Д. ПАПАНИНА РАН



РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



**ДЕПАРТАМЕНТ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ
ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТИ**

АНТРОПОГЕННОЕ ВЛИЯНИЕ НА ВОДНЫЕ ОРГАНИЗМЫ И ЭКОСИСТЕМЫ

МАТЕРИАЛЫ

**V ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО ВОДНОЙ ЭКОТОКСИКОЛОГИИ,
ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ Б.А. ФЛЕРОВА**

И

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

МАТЕРИАЛЫ

ШКОЛЫ-СЕМИНАРА ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ, АСПИРАНТОВ И СТУДЕНТОВ

Борок, 28 октября - 1 ноября 2014 г.

ТОМ 2

В этих же вариантах отмечено существенное снижение коэффициента корреляции митотического индекса, указывающее на снижение вариабельности этого показателя и примерно равную восприимчивость зародышей тестируемых факторов.

Освещенность и статус магнитного поля могут выступать как самостоятельные факторы влияния на митоз бластомеров. Примером этого служит статистически значимое и примерно равное увеличение соотношения числа начальных и снижение числа завершающих стадий митотического цикла в сочетанном варианте с естественным освещением в “нулевом” магнитном поле и в варианте с полным отсутствием освещения в режиме естественного геомагнитного поля.

Во всех вариантах сочетанных режимов освещения и магнитных условий, в сравнении с естественными условиями развития (день, 16 ч. + ночь, 8 ч.), возрастает процент клеток с абберантными митозами. Наиболее выражен тератогенный эффект в ходе митотического деления зародышевых клеток в варианте развития зародышей в полной темноте в условиях естественного гипомангнитного поля (13.6 % против 3.2% в контроле).

Таким образом, увеличение общей митотической активности бластомеров в двух опытных вариантах демонстрирует чувствительность определенных клеточных (или биохимических структур) к гипомангнитной среде и отсутствию света. Конкретизация их в рамках настоящей работы не была нашей задачей, мы можем лишь констатировать сам факт инициации непрямого деления клеток. Аналогичный эффект, но не сопровождающийся блокадой заключительных фаз митоза, отмечен нами в экспериментах по воздействию на зародыши плотвы типичной магнитной бури [4]. В связи с обсуждаемым феноменом, кажется уместным мнение о том, что при воздействии внешнего сигнала на метаболизм клетки, вне зависимости от его природы, первая реакция связана с усилением белково-синтетической функции клеток и коррекцией ионного гомеостаза клетки с особой его ролью в обеспечении заряженных двухвалентных ионов. В частности, отмечают значительное влияние полифункциональных ионов Ca^{++} , участвующих в работе многих ферментных систем, в реализации процессов оплодотворения, дробления и в сохранении структуры и функции клеточных мембран [5].

Переход клетки к митотическому делению и его успешная реализация осуществляется только по завершении синтеза ДНК и обеспечивается так называемым «фактором, стимулирующим митоз», который синтезируется в цитоплазме в конце интерфазы [2]. В нашем случае во всех опытных вариантах, наряду с тератогенным эффектом, отмечена одна общая тенденция, а именно, переход значительного числа клеток-рекрутов в стадию метафазы и явное торможение митоза на заключительных его стадиях. Вполне возможно, что отклонение от нормы развития этого процесса, вызвавшее конкретные изменения митотического деления бластомеров плотвы, обусловлено нарушением эволюционно сложившегося оптимального баланса двух внешних факторов – освещения и магнитного поля.

Список литературы

1. Ашоф Ю. Биологические ритмы. М.: Мир, 1984. 262 с.
2. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига, 2004. 495 с.
3. Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Наука, 1992. 272 с.
4. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Крылов В.В. Реакция животных и растительных клеток на действие типичной магнитной бури // Геофизические процессы и биосфера. 2013. Т. 12. № 1. С. 14-21.
5. Бродский В.Я. Клеточная теория. Развитие в исследованиях межклеточных взаимодействий // Онтогенез. 2009. Т. 40. № 5. С. 323-333.

УДК: 574.64: 546.49:582.263.1(262.5)

ЭКВИДОЗИМЕТРИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ИЗУЧЕНИИ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РТУТИ НА МАКРОФИТЫ НА ПРИМЕРЕ ЧЕРНОМОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ *Ulva rigida* C. Agardh

Н.Н. Терещенко, В.Н. Поповичев, А.П. Стецюк, С.Б. Гулин

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского
299011, просп. Нахимова, 2, Севастополь, Россия, natalter@ukr.net

В работе приведены результаты экспериментальных исследований токсического действия ртути в широком диапазоне её концентрации в морской воде на процессы жизнедеятельности (аккумуляция ^{14}C и прирост биомассы) и выживаемости черноморской многоклеточной зеленой

водоросли *Ulva rigida* C. Agardh. Для эквидозиметрической характеристики этого воздействия проведена оценка экологического Грей-эквивалента ртути для водоросли.

Ключевые слова: ртуть, *Ulva rigida*, Чёрное море, эквидозиметрическая оценка, Грей-эквивалент

Современная экологическая ситуация характеризуется наличием в водных экосистемах многих, негативно влияющих на биоту, антропогенных факторов, а в ряде случаев, усилением воздействия природных факторов до таких уровней интенсивности, которые вызывают повреждающие эффекты или даже гибель гидробионтов. Эта проблема стоит остро и в отношении Чёрного моря, как внутреннего водоёма, широкомасштабно подверженного техногенному воздействию [1].

Для решения многих вопросов рационального природопользования и сохранения видового разнообразия важно развитие нового направления в экологии, сопряжённого с экотоксикологией и хеморадиоэкологией, – радиохемозэкологической эквидозиметрии [2, 3], которая посвящена сравнительной оценке влияния разных загрязнителей, как химических, так и радиоактивных, и определению их эквивалентных доз воздействия на биоту. Эквидозиметрия призвана служить основой оценки экологической опасности, а также выбора экологически приемлемых нагрузок на экосистемы, формируемых различными факторами. Это особенно важно в эпоху технического прогресса, когда количество и интенсивность факторов возрастает и необходима единая система оценки воздействия на общем дозиметрическом основании, которым может служить всеобщая единица эквидозиметрической оценки влияния факторов. И хотя это весьма непростая задача, поскольку природа факторов и механизмы их воздействия, а также реакция живых организмов и их сообществ многообразны и сложны, уже проведён ряд исследований, которые направлены на её решение [2-6]. Обосновано использование ионизирующего излучения в качестве стандарта сравнительной оценки радиохемозэкологического воздействия [2-4] и предложена общая единица эквидозиметрической оценки поражающего действия любого фактора – экологический Грей-эквивалент, выражаемый для химических токсикантов в Грей/микромоль/литр (Гр/мкмоль/л) [2-4, 7].

Одним из наиболее опасных загрязнителей морских экосистем является ртуть, которая относится к тяжелым металлам. Она обладает высокой токсичностью и способностью накапливаться в морских организмах и донных отложениях [8]. Ртуть относится к токсикантам природного происхождения, но поток, которых в природные экосистемы усиливается антропогенной деятельностью. Основными источниками загрязнения прибрежных акваторий Чёрного моря являются промышленные стоки, отходы водного транспорта, агрохимические технологии в сельском хозяйстве, сжигание каменного угля [1, 8-12].

Для характеристики уровня токсического действия тяжелых металлов используют молярную токсичность и по ней выстраивают ряд токсичности этих металлов для данных организмов. Ртуть занимает первое место в ряду молярной токсичности тяжелых металлов для водорослей, как и для многих других организмов: $Hg > Cu > Cd > Fe > Cr > Zn > Co > Mn$ [9].

Повышенные концентрации ртути в речных и морских водах отрицательно воздействуют на состояние водных экосистем. Концентрация хлорида ртути 0.002 – 0.250 мг/л вызывает у растений задержку роста [12, 13]. При концентрации ртути 0.1 мкг/л подавляется жизнедеятельность одноклеточных морских водорослей [1, 13]. Предельно допустимая концентрация (ПДК) ртути для морской воды принята 100 нг Hg/л [8, 10].

Настоящая работа посвящена исследованию токсического влияния ртути на представителя массовых черноморских зеленых многоклеточных водорослей – *Ulva rigida* C. Agardh (ульва) и проведению количественной эквидозиметрической оценки этого влияния.

Объект исследования – талломная водоросль *U. rigida* – массовый черноморский вид, рекомендованный для культивирования, обладающий разнообразным промышленным ресурсным потенциалом [14]. Талломы ульвы отбирали в прибрежной зоне севастопольских бухт на глубине 0.1 - 2 м, в период с мая по июль 2013 г.

Влияние ртути на морские организмы оценивают в токсикологических исследованиях по биологическим показателям их жизнедеятельности и выживаемости [10, 11]. В качестве исследуемых показателей жизнедеятельности водорослей нами были выбраны количественные параметры: коэффициент накопления (K_n) ульвой радиоактивного углерода (^{14}C), характеризующий его аккумуляцию водорослью, как показатель её метаболических и фотосинтетических процессов, а также – прирост биомассы и выживаемость водоросли. Кроме того, путём микрофотосъёмки с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS 100-F, проводили визуальную качественную оценку состояния пигментной системы данной водоросли.

В морской воде, отобранной для эксперимента, определяли исходную концентрацию ртути с использованием метода непламенной атомно-абсорбционной спектрофотометрии (метод холодного пара) [15]. Измерения проводили на анализаторе ртути «Юлия-2» с чувствительностью

1 нг. Ошибка определения не превышала 20 %. Диапазон концентраций ртути, исследованный в экспериментах, включал как концентрации ниже ПДК, так и уровни многократно превышающие её. Для создания более высоких концентраций ртути в экспериментах в морскую воду вносили её добавки в форме водного раствора сулемы (HgCl_2). В каждом последующем аквариуме, согласно общепринятой методике токсикологических исследований [9, 10], концентрацию ртути увеличивали в 2, 5, $n \times 10$ раз. При изучении прироста и выживаемости ульвы максимальная добавка ртути составляла в первом эксперименте 7.7×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$, а во втором и третьем экспериментах – 7.7×10^5 нг $\text{Hg}/\text{л}$. Исследования накопления ульвой радиоуглерода проводили в диапазоне добавок ртути от 73 до 7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$.

Эквидозиметрическую оценку воздействия ртути на макроводоросли производили с использованием литературных данных по поражающему действию ионизирующего излучения на водоросли, используя показатель LD_{50} [7, 16, 17]. Экологический Грей-эквивалент ртути, выраженный в $\text{Гр}/(\text{мкмоль } \text{Hg}/\text{л})$ определяли, как отношение величины дозы ионизирующей радиации и молярной концентрации ртути, при действии которых выживаемость водорослей составляла 50 % [4, 6, 7, 17].

Исследование кинетики накопления ^{14}C ульвой проводили при разных концентрациях ртути в морской воде (1-й вариант – контроль (7 нг $\text{Hg}/\text{л}$), 2-й – 5-й варианты, соответственно, с концентрацией ртути в воде – 80, 730, 7.3×10^4 и 7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$). При этом была зафиксирована первая краткосрочная 15-минутная экспозиция влияния ртути на накопление ^{14}C ульвой. Высокая концентрация ртути в воде (7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$) с первых минут эксперимента действовала угнетающе на процессы метаболизма водоросли. В целом наблюдали разнонаправленные изменения интенсивности накопления ^{14}C ульвой. В диапазоне концентраций 7 – 730 нг $\text{Hg}/\text{л}$ коэффициенты накопления – K_n ^{14}C не различались. При концентрации 7.3×10^4 нг $\text{Hg}/\text{л}$ наблюдали увеличение, а при концентрации 7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$ – резкое угнетение аккумуляции радиоуглерода водорослью. Увеличение K_n ^{14}C при концентрации 7.3×10^4 нг $\text{Hg}/\text{л}$ можно рассматривать как адаптационную реакцию водоросли на острое воздействие химического токсиканта, а резкое угнетение накопления радиоуглерода при концентрации 7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$ – как свидетельство превышения адаптивного потенциала водоросли.

При более длительных экспозициях (до 7-ми суток) тенденции изменения K_n ^{14}C ульвой в полулогарифмическом масштабе представлены на рис. 1.

На седьмые сутки эксперимента, в пределах 20%-ной погрешности определения значений K_n ^{14}C ульвой, уровни накопления радиоуглерода водорослью при концентрациях ртути 80 – 7.3×10^4 нг $\text{Hg}/\text{л}$ достоверно не отличались друг от друга, при этом абсолютные значения K_n варьировали в диапазоне от 70 до 108 единиц. Однако при концентрации ртути в воде равной 7.3×10^6 нг $\text{Hg}/\text{л}$ значение K_n составляло 0.3 (рис. 1). Во время всего эксперимента при этой концентрации ртути в воде значения K_n ^{14}C ульвой были меньше единицы и изменялись в пределах значений 0.2 – 0.3, что указывало на отсутствие биоаккумуляции ^{14}C водорослью. При этом уже через 1 сутки происходило осветление окраски водоросли, а в дальнейшем и полное обесцвечивание её, что указывает на разрушение зелёного пигмента в хлоропластах водоросли в этих условиях.

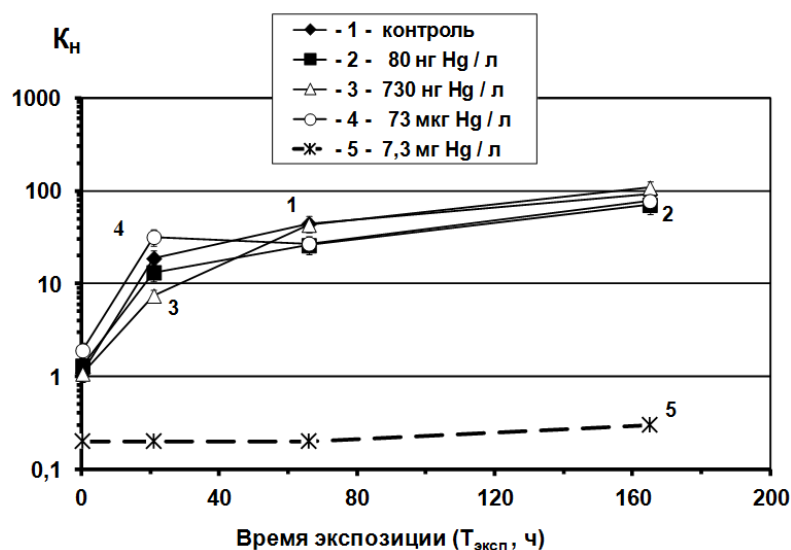


Рис. 1. Кинетика накопления ^{14}C зелёной водорослью *Ulva rigida* при разных концентрациях ртути в морской воде, где K_n – коэффициент накопления ^{14}C

Исследование изменения прироста биомассы ульвы при разных концентрациях ртути в воде показало, что изменение его происходило разнонаправленно. При этом для концентраций ртути до 850 нг Нг/л, включительно, на 13-е сутки прирост биомассы фактически сравнялся с таковым в контроле, а для концентраций равных и выше 1520 нг Нг/л – резко снизился (для концентрации 1520 нг Нг/л - в 4 раза) (рис. 2). Уменьшение прироста биомассы ульвы в два раза по отношению к контролю было характерно для концентрации ртути в воде 7.7×10^4 нг Нг/л.

При концентрации 7.7×10^5 нг Нг/л наблюдения за приростом биомассы водорослей были прекращены после 9 суток эксперимента из-за гибели водорослей. При визуальном наблюдении за состоянием пигментной системы водорослей в аквариумах с максимальными концентрациями ртути в воде (как и при микрофотосъёмке) было отмечено выраженное осветление окраски фрагментов ульвы. В аквариумах с летальными концентрациями ртути (7.7×10^5 нг Нг/л и 7.7×10^6 нг Нг/л) произошло полное обесцвечивание талломов, очевидно, в результате разрушения хлорофилла, и гибель всех образцов ульвы. Во время исследования выживаемости ульвы при концентрациях в диапазоне $160-7.7 \times 10^3$ нг Нг/л наблюдали её уменьшение только на 9 и 10 сутки эксперимента.

При концентрации 7.7×10^4 нг Нг/л выживаемость снизилась до 85 % на 4-е сутки эксперимента и к концу эксперимента составила 70 %, а при концентрации 7.7×10^5 нг Нг/л она вначале снизилась и составила 71 %, а на седьмые сутки была равна нулю. Следовательно, самая низкая концентрация ртути в воде, которая вызвала для ульвы 100 % летальный эффект всех образцов, составляла 7.7×10^5 нг Нг/л. Полулетальная концентрация ртути в воде в наших экспериментах составляла 7.7×10^4 нг Нг/л или 77 мкг Нг/л, что составляет 0,4 мкмоль Нг/л. Экологический Гр/эквивалент в отношении ртути составил для ульвы 2500 Гр/(мкмоль Нг/л), что свидетельствует о высокой токсичности ртути и достаточно высокой устойчивости ульвы к ртутному загрязнению.

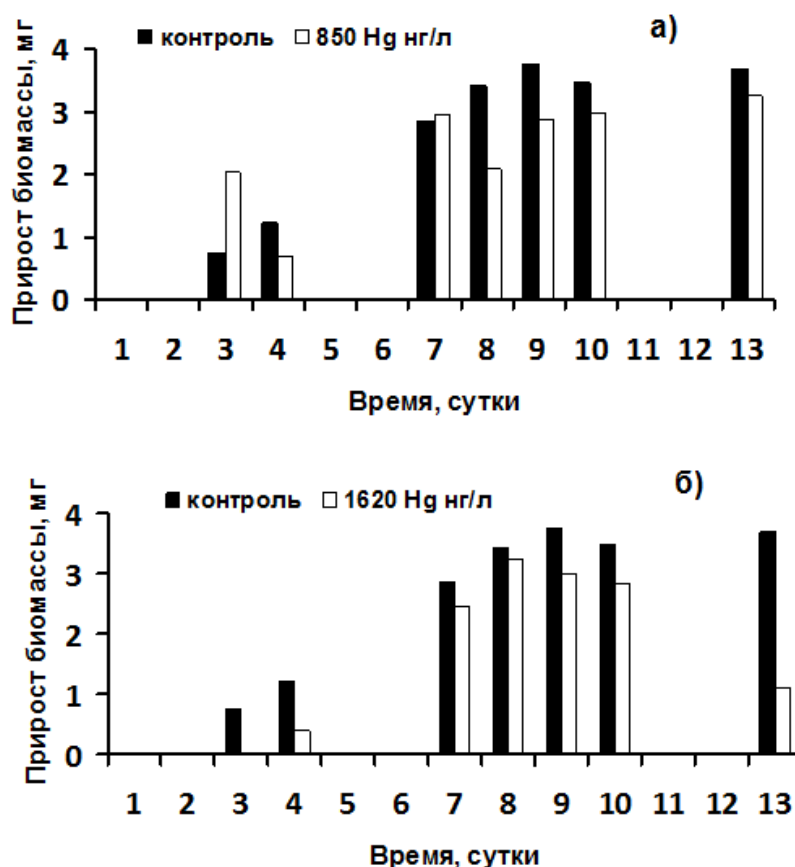


Рис. 2. Кинетика прироста биомассы зелёной многоклеточной водоросли *Ulva rigida* при концентрации ртути в воде: А) – 850 нг Нг/л; Б) – 1620 нг Нг/л

Таким образом, в результате экспериментального изучения токсического действия ртути на многоклеточные черноморские водоросли вида *Ulva rigida* С. Agardh было установлено, что на начальном этапе действия ртути наблюдали разнонаправленные колебания значений изучаемых

количественных параметров, при этом в диапазоне концентраций до 850 нг Hg/л к 13-ым суткам прирост биомассы восстанавливался, а при концентрациях 1620 нг Hg/л и выше он снижался. Концентрации ртути в воде в диапазоне 1620 – 7.7×10^6 нг Hg/л оказывали угнетающее влияние на показатели жизнедеятельности водоросли: прирост биомассы, выживаемость и состояние пигментной системы. При этом уровни накопления ульвой ^{14}C при концентрациях ртути 80 – 7.3×10^4 нг Hg/л достоверно не отличались друг от друга в пределах 20 % погрешности. Абсолютные значения K_n варьировали в пределах от 70 до 108 единиц. Концентрация 7.3×10^6 нг Hg/л вызвала ингибирование аккумуляции ульвой ^{14}C уже через 15 минут от начала эксперимента, при этом K_n радиоуглерода были ниже единицы и составляли 0.2 – 0.3. Пребывание ульвы в воде при концентрации 7.3×10^6 нг Hg/л в дальнейшем привело к полному обесцвечиванию её талломов. При изучении выживаемости водоросли в диапазоне концентраций 7.7×10^5 – 7.7×10^6 нг Hg/л к 13-ым суткам наблюдали 100 % летальный эффект. Концентрация ртути, вызывавшая снижение выживаемости *U. rigida* в 2 раза составляла 7.7×10^4 нг Hg/л.

Проведённая экологическая эквидозиметрическая оценка молярной токсичности ртути для *U. rigida* позволила оценить экологический Гр/эквивалент в отношении ртути для *U. rigida* на уровне 2500 Гр/(мкмоль Hg /л). Для сравнения, отметим, что для менее токсичного тяжелого металла, такого как медь, Гр/эквивалент для представителей красных черноморских многоклеточных водорослей составлял 241 Гр/(мкмоль Cu/л) [6].

Список литературы

1. Polikarpov G.G., Zaitsev Y.P., Zats V.I., Radchenko L.A. Pollution of the Black Sea (Levels and sources), Proceedings of the Black Sea Symposium, Ecological Problems and Economical Prospects, 1991, Publ. by The Black Sea Foundation for Education, Culture and Protection of Nature, Istanbul, 1994. – P. 15–42.
2. Polikarpov G.G. Effects of nuclear and non-nuclear pollutants on marine ecosystems // Marine Pollution: Proceedings of a Symposium Held in Monaco, 5-9 October 1998, IAEA-TECDOC-1094, Vienna, 1999. – P. 38–43.
3. Polikarpov G.G. Biological aspect of radioecology: objective and perspective. // Comparative Evaluation of Environmental Toxicants. Proceedings of the International Workshop on Comparative Evaluation of Health Effects of Environmental Toxicants Derived from Advanced Technologies, Chiba, January 28-30, 1998. Tokyo, Kodansha Scientific LTD, 1998. – P. 3–15.
4. Fuma S., Miyamoto K., Takeda H., Yanagisawa K. et al., Ecological effects of radiation and other environmental stress on aquatic microcosm, International Workshop on Comparative Effects of Health Effects on Environmental Toxicants Derived from Advanced Technologies. National Institute on Radiological Sciences: Abstracts, 1998, P. 21–22.
5. Поликарпов Г.Г., Цыцугина В.Г. Сравнение цитогенетической и экосистемной эффективности действия радиоактивных и химических мутагенов в гидросфере // Докл. НАН Украины. – 1999. – № 6. – С. 199–202.
6. Tereshchenko N.N., Vladimirov V.B. Equidosimetric comparesion of efficiency of effects of gamma-irradiation and chemical toxic agents (copper and phenol) on the red algae of the Black Sea / Equidosimetry. – Netherlands: Springer, 2005. – P. 73–78.
7. Поликарпов Г.Г. Концептуальная модель зональности хронического действия мощностей доз ионизирующих излучений в природе / Радиоэкологический отклик Чёрного моря на чернобыльскую аварию / Под ред. Г.Г. Поликарпова, В.Н. Егорова. – Севастополь: «ЭКОСИ-Гидрофизика», 2008. – С. 351–357.
8. Костова С.К., Егоров В.Н., Поповичев В.Н. Многолетние исследования загрязнения ртутью Севастопольских бухт (Черное море) // Экология моря. – 2001. – Вып. 56. – С. 99–104.
9. Холопов Ю.А. Тяжёлые металлы как фактор экологической опасности. – 2003. – Самара: СамГАСП. – 16 с.
10. Трахтенберг И.М., Коршун М.Н. Ртуть и ее соединения // Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I – IV групп: Справ. Изд. / Под ред. В.А. Филова. – Л.: Химия, 1988. – С. 170–188.
11. Беспамятников Г.П., Кротов Ю. А. Предельно-допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде. – Л.: Химия, 1985. – 304 с.
12. Титова В.И., Дабахов М.В., Дабахова Е.В. Экотоксикология тяжелых металлов. – Н.Новгород: НГСХА, 2001. – 135 с.
13. Мур Дж.В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах: Контроль и оценка влияния: Пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 288 с.
14. Калугина-Гутник А.А. Фитобентос Чёрного моря. – Киев: Наук. думка, 1975. – 323 с.
15. Прокофьев А.К., Степанченко Т.В. Методы определения токсичных загрязняющих веществ в морской воде и донных осадках. – М.: Гидрометеиздат, 1981. – С. 34–42.
16. Поликарпов Г.Г. Радиохемэкология, коэволюция и экзотика Чтения памяти Н.В. Тимофеева-Ресовского. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2000. – С. 52–61.
17. Santschi P. H., Honeyman B.D. Radionuclides in Aquatic Environments. Radiation Physics and Chemistry, 1989. – Vol. 34. – № 2. – P. 213–240.